

SÉRIE A, N° 2027
N° D'ORDRE : 2894

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

par

Roger COUJARD

2^e THÈSE :

**Essais sur la signification chimique
de quelques méthodes histologiques
Réactions phénoliques
et coloration des nerfs et du chondriome**

Soutenue le 15 Avril 1943 devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT	Président
AUBEL	} Examineurs.
GRASSÉ	

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
G. PATISSIER

1943

ESSAIS SUR LA SIGNIFICATION CHIMIQUE
DE QUELQUES MÉTHODES HISTOLOGIQUES
RÉACTIONS PHÉNOLIQUES
ET COLORATION DES NERFS ET DU CHONDRIOME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A, N° 2027
N° D'ORDRE : 2894

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

Roger COUJARD

2° THÈSE :

**Essais sur la signification chimique
de quelques méthodes histologiques.**

**Réactions phénoliques
et coloration des nerfs et du chondriome.**

Soutenue le 15 Avril 1943 devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT	Président
AUBEL	} Examinateurs.
GRASSÉ	

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
G. PATISSIER

1943

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

<i>Professeurs honoraires</i>	Léon BRILLOUIN	G. BERTRAND	CAULLERY
	AUGER	Ch. FABRY	CARTAN
	DANGEARD	Léon BERTRAND	E. BOREL
	LESPIEAU	WINTREBERT	A. COTTON
	VESSIOT	DUBOSCQ	J. DRACH
	PORTIER	BOHN	M. GUICHARD
	LAPICQUE	RABAUD	LABROUSTE

PROFESSEURS

Charles PÉREZ ...	T Zoologie.
L. BLARINGHEM ...	T Botanique.
G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
C. MAUGUIN	T Minéralogie.
A. DENJOY	T Géométrie supérieure.
L. LUTAUD	T Géographie physique et géologie dynamique.
G. BRUHAT	T Physique.
E. DARMOIS	T Enseignement de Physique.
A. DEBIERNE	T Physique Générale et Radioactivité.
L. DUNOYER	T Chimie physique.
M. JAVILLIER	T Chimie biologique.
Henri VILLAT ...	T Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB	T Géologie.
P. PASCAL	T Chimie générale.
M. FRÉCHET	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.
E. ESCLANGEON ...	T Astronomie.
H. BÉGHIN	T Mécanique physique et expérimentale.
FOCH	T Mécanique expérimentale des fluides.
PAUTHENIER	T Electrotechnique générale.
DE BROGLIE	T Théories physiques.
CHRÉTIEN	Optique appliquée.
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.
VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
COMBES	T Physiologie végétale.
GARNIER	T Application de l'analyse à la Géométrie.
PÉRÈS	T Mécanique rationnelle.
HACKSPILL	T Chimie minérale.
TOUSSAINT	Technique Aéronautique.
M. CURIE	Physique (P. C. B.).
G. RIBAUD	T Hautes températures.
CHAZY ...	T Mécanique analytique.
GAULT	T Chimie (P. C. B.).
CROZE	T Physique théorique et Physique céleste.
DUPONT	T Théories chimiques.

VALIRON	T	Calcul différentiel et Calcul intégral.
BARRABÉ		Géologie structurale et géologie appliquée.
MILLOT		Biologie animale (P. C. B.).
F. PERRIN		Théories physiques.
VAVON	T	Analyse et mesures chimiques.
G. DARMOIS	T	Mathématiques générales.
CHATTON	T	Biologie maritime.
AUBEL		Chimie biologique.
Jacques BOURCART		Géographie physique et Géographie dynamique.
M ^{me} JOLIOT-CURIE.		Physique générale et Radioactivité.
PLANTEFOL		Biologie végétale (P. C. B.).
CABANNES	T	Recherches physiques.
GRASSÉ	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
PREVOST		Chimie organique.
BOULIGAND		Mathématiques.
CHAUDRON		Chimie (P. C. B.).
WYART		Minéralogie.
TEISSIER		Zoologie
MANGENOT		Biologie végétale (P. C. B.).
P. AUGER		Physique.
MONNIER		Physiologie générale.
PIVETEAU		Géologie.
ROCARD		Physique.
H. CARTAN		Calcul différentiel.
SCHAEFFER	T	Physiologie générale.
LAFFITTE		Chimie (P. C. B.).

Secrétaire A. PACAUD

Secrétaire honoraire D. TOMBECK



Essais sur la signification chimique de quelques méthodes histologiques.

Réactions phénoliques et coloration des nerfs et du chondriome ⁽¹⁾

Dans une note précédente, nous avons étudié la réaction des terminaisons nerveuses au réactif acide osmique iodure alcalin. Cette réaction particulièrement intense sur le sympathique adrénalinergique lui est commune avec la médullo-surrénale et les cellules de Ciaccio et paraît ainsi être due à la présence de composés phénoliques voisins de l'adrénaline.

Nous avons cherché si d'autres réactions plus spécifiques (2) des phénols confirmeraient ce point de vue. Malheureusement, les réactions spécifiques comme celle de diazotation de **Clara** (1926), **Lison** (1930), **Vialli** (1934), ne donne pas de résultats clairs, parce que la coloration est peu intense et les parties qu'on veut colorer très ténues. De là, l'idée de chercher d'autres colorations qui, de moindre valeur chimique sans doute, donneraient des résultats plus intenses.

Nous avons utilisé une méthode d'essais sur lame qui consiste en ceci : avec une fine plume et une solution d'albumine ou de gélatine, on écrit un signe quelconque sur une lame. Comparativement, on écrit un signe analogue avec la même substance addi-

(1) Les conditions présentes font que ce travail a dû être ici extrêmement résumé et réduit à l'essentiel.

(2) L'osmium-iodure colore beaucoup de choses et certainement autre chose que des phénols, mais ceux-ci, entre autres, le réduisent et avec une intensité particulière.

tionnée d'un peu de phénol ou du corps à étudier, et on cherche une méthode qui fasse apparaître le second signe coloré plus intensément que le premier. Si la différence est bien nette, on peut essayer la méthode sur les tissus.

Avec l'adrénaline, on obtient ainsi nettement la réaction chromaffine, celle de Vulpian étant inappréciable. On observe d'ailleurs que l'iodate préconisé par Lison, ne donne pas du tout la même coloration, mais une teinte brunâtre au lieu du brun doré. Il y a donc, dans la réaction chromaffine, quelque chose de plus que la formation de phénoquinone.

Ce qui nous a surtout intéressé, c'est la fixation. Il nous paraît, à priori, singulier que les phénols restent en place après fixation au formol (dans les méthodes de **Clara, Lison**), s'ils ne sont pas insolubilisés sous quelque forme. En fait, quand on fait sur lame la réaction chromaffine, il y a déjà une importante diffusion de l'adrénaline. Si la lame a été préalablement formolée, cette diffusion est réduite. Est-ce seulement la coagulation de la protéine-support qui est intervenue ? Il ne semble pas, car avec la gélatine, qui ne se dissout pas à froid, on observe la même différence.

Or, il faut songer que la formation de phénoquinone n'est, après tout, qu'un cas particulier de la propriété qu'ont les phénols de donner des complexes avec les aldéhydes. Le formol ordinaire est le meilleur agent de la formation de produits de polymérisation qui, dès que la molécule grossit, deviennent vite insolubles et fixes. Cette propriété est utilisée dans l'industrie pour la fabrication de résinoïdes synthétiques dites bakélites (du nom du chimiste **Bakelland**) (1).

Dans l'industrie, on catalyse la réaction pour l'accélérer, soit par chauffage, soit par l'addition d'acides ou d'alcalis. Mais la polymérisation débute à la température ordinaire. Ainsi, le liquide de **Champy** (1913) formol-phénol-acide trichloracétique, dépose des résines en quelques jours.

(1) L'étude des bakélites a été faite par **BAKELLAND** (1909-1912), **LEBACH** (1909-1913), **ELLIS** (1923), **SCHEIBER** et **SANDING** (1931). On obtient, du reste, des produits très divers plus ou moins insolubles et, en général, mal définis, selon les conditions et la nature du catalyseur.

Nous avons essayé in vitro ce que donnent divers phénols additionnés de formol. Ils forment tous plus ou moins vite (selon la température ambiante des dépôts résinoïdes). Ainsi, le phloroglucinol se prend en masse en 2 à 3 jours, le résorcinol donne un dépôt chamois, l'hydroquinone et le pyrocatéchol bien plus lentement un dépôt foncé.

On ne peut donc éviter une formation de polymères du type bakélite quand on fixe au formol un tissu renfermant des corps phénoliques et, selon la durée de la fixation, la polymérisation se trouve poussée plus ou moins loin c'est-à-dire jusqu'à des corps à molécules plus ou moins grosses et aussi plus ou moins fixes.

Les acides et alcalis forts ne sont pas des catalyseurs à employer en histologie, mais nous avons observé que des oxydants divers peuvent accélérer in vitro ou sur lame, la formation de bakélites. Le bichromate, l'iodate, les sels cériques, les sels d'Uranyle, paraissent pouvoir jouer ce rôle. Les persulfates ont, au contraire, une action à peu près nulle.

Naturellement, avec les diphénols quinonisables, il y a formation de quinones et de phénoquinones, mais ce corps lui-même réagit sur le formol, si bien qu'il serait imprudent de caractériser le corps qui se forme : on aboutit toujours assez vite à un produit insoluble.

Par la méthode de la lame, on peut voir que les bakélites formées, prennent intensément divers colorants histologiques que ne retiennent pas la gélatine ou l'albumine seule et on peut obtenir des colorations différentielles très nettes du signe porteur de phénol et de celui qui n'en renferme pas après une fixation formolée convenable. L'hématoxyline ferrique donne les meilleurs résultats (1). L'adrénaline, fixée au formol-bichromate en brun, au formol-iodate en gris brun, se surcolore ainsi nettement par l'hématoxyline ferrique. Ceci explique d'ailleurs que des fixations formolées un peu prolongées, ou des fixations au formol-bichromate, permettent une coloration au fer intense, des grains d'adrénaline ou ceux des cellules de **Ciaccio**.

(1) Naturellement, on fait les deux signes à comparer sur la même lame et on colore et décolore en même temps, sans quoi on peut colorer n'importe quoi par cette méthode.

Il était intéressant de chercher si on pourrait colorer sur coupes fixées au formol-iodate, le plus commode des réactifs, les terminaisons nerveuses comme avec la méthode osmium-iodure. On est ici gêné par le fait que l'hématoxyline ferrique colore, dans ces coupes, en plus du réseau nerveux éventuel tout ce qu'elle colore d'habitude. On a des préparations foncées qui nécessitent des coupes fines et la comparaison avec une fixation banale. Le réseau sympathique n'est pas facile à distinguer dans tout cela. Mais, en cherchant des coupes en biseau d'artérioles où l'on a un aspect bien typique, ou bien en opérant sur des coupes de muqueuse intestinale, où la mise en évidence, en noir intense, des cellules de **Ciaccio** avertit du temps de fixation, la bakélisation étant alors assez poussée, nous avons pu le reconnaître. Nous l'avons même retrouvé sur de vieilles coupes fixées au liquide de **Regaud** sur lesquelles on ne l'avait pas vu auparavant parce qu'on n'y pensait pas. L'aspect ressemble plus à celui qu'on obtient avec la méthode de **Bielchowsky** (1) qu'à celui de la méthode de Champy.

Logiquement, la fixation formol-iodate ou formol-oxydant, (nous avons employé avec succès le sulfate cérique, l'acétate d'uranyle le bichromate, mais l'iodate est celui qui abime moins les tissus, ne doit pas être nécessaire pour obtenir le réseau sym-

(1) La méthode de BIELCHOWSKY elle-même permet dans les essais sur la lame de colorer le signe porteur de phénol ou d'adrénaline électivement, ce qui nous confirme dans l'idée que la nature phénolique d'un composant des terminaisons nerveuses y joue un rôle. On peut concevoir ainsi ce qui se passe : la fixation au formol (nécessairement prolongée pour que le BIELCHOWSKY réussisse) transforme les phénols en bakélites. Les bakélites, on le sait et nous l'avons vérifié sur celles que nous avons préparées, ont une certaine tension de dissociation. Après lavage prolongé, elles continuent à dégager un peu de formol. La pièce formolée, lavée très soigneusement (nécessaire dans la méthode de BIELCHOWSKY), continue à dégager au niveau des nerfs un peu de formol qui amorce la réduction de l'argent. Les opérations ultérieures ne sont que du renforcement. Pourquoi obtient-on souvent (pas toujours en fait) une coloration fibrillaire ? Sans doute, parce que le précipité est absorbé par ce qui est le plus solide au voisinage, par le même phénomène que le dépôt d'argent sur la paroi du tube où on opère sa réduction.

pathique, une fixation formolée suffisamment prolongée doit pouvoir y arriver. En fait, nous l'avons observé çà-et-là, mais très irrégulièrement sur ces fixations au formol ou au Hollande.

Pour confirmer ces notions sur des enclaves phénoliques connues, nous avons examiné un peu le cas des cellules de **Ciaccio**. On est d'accord pour penser que l'argentaaffinité est plus étendue que la chromaaffinité, ce qui s'explique sans doute parce qu'elle joue sur des phénols encore combinés. Cette argentaaffinité s'explique bien par le fait que les bakélites se dissocient et émettent du formol réducteur de l'oxyde d'argent. Le fait que la méthode de Fontana colore aussi les cellules prépigmentaires (fonction phénolique de la tyrosine) est tout à fait d'accord. Nous avons vu, sur diverses préparations longuement fixées où le Fontana ne colorait plus, qu'on obtenait des colorations excellentes des grains de Ciaccio avec l'hématoxyline ferrique, alors qu'on ne les obtient guère sur le même objet quand le Fontana colore bien.

Il faut penser que la dissociation de la bakélite et la libération de formol est d'autant plus marquée que la molécule de polymère est moins grosse. Au contraire, la coloration par l'hématoxyline est d'autant plus intense que la polymérisation est plus poussée (sans doute parce qu'il s'agit d'un phénomène d'adsorption).

Il était intéressant de voir ce que les réactions employées donnaient chez les Végétaux où les composés phénoliques sont bien connus et renfermés dans des organites de morphologie bien connue. Ainsi, les vacuoles à tanoïdes qui, ainsi que l'a vu **Dangeard** (1916), ont à leur stade jeune un aspect filamenteux, nous ont paru favorables. Sur l'exemple donné par **Guillermond** (1933), des cellules à anthrocyanes des folioles de rosiers, on obtient des colorations très nettes tant avec l'acide osmique iodure qu'avec l'hématoxyline au fer après fixation au formol-iodate. Le réactif de **Champy** donne des colorations bien plus intenses que l'acide osmique seul (qui colore aussi un peu). Sur d'autres objets, il nous a donné des colorations remarquablement électives des filaments précédant les vacuoles, permettant d'en suivre l'évolution avec clarté et en même temps de les différencier du chondriome qui a un tout autre aspect.

Cette courte digression dans la cytologie botanique nous confirme donc dans l'idée que c'est bien de composés phénoliques

Légende de la Planche I.

A. — Cellule interstitielle dans la glande de Harder du mouton. Coloration intense par l'osmium.

B. — Coloration du plexus de Meissner et d'une cellule de Ciaccio. Méthode de Champy à l'osmium, colon de cobaye.

C. — Chondriome de l'intestin de canard : formol-iodate 2 jours au fer

D. — Chondriome du foie de triton : formol-iodate 2 jours au fer.

E. — Intestin grêle de rat. Cellule de Ciaccio et réseau de Meissner colorés par la méthode à l'osmium.

F. — Chondriome du rein de canard : formol-iodate 2 jours.

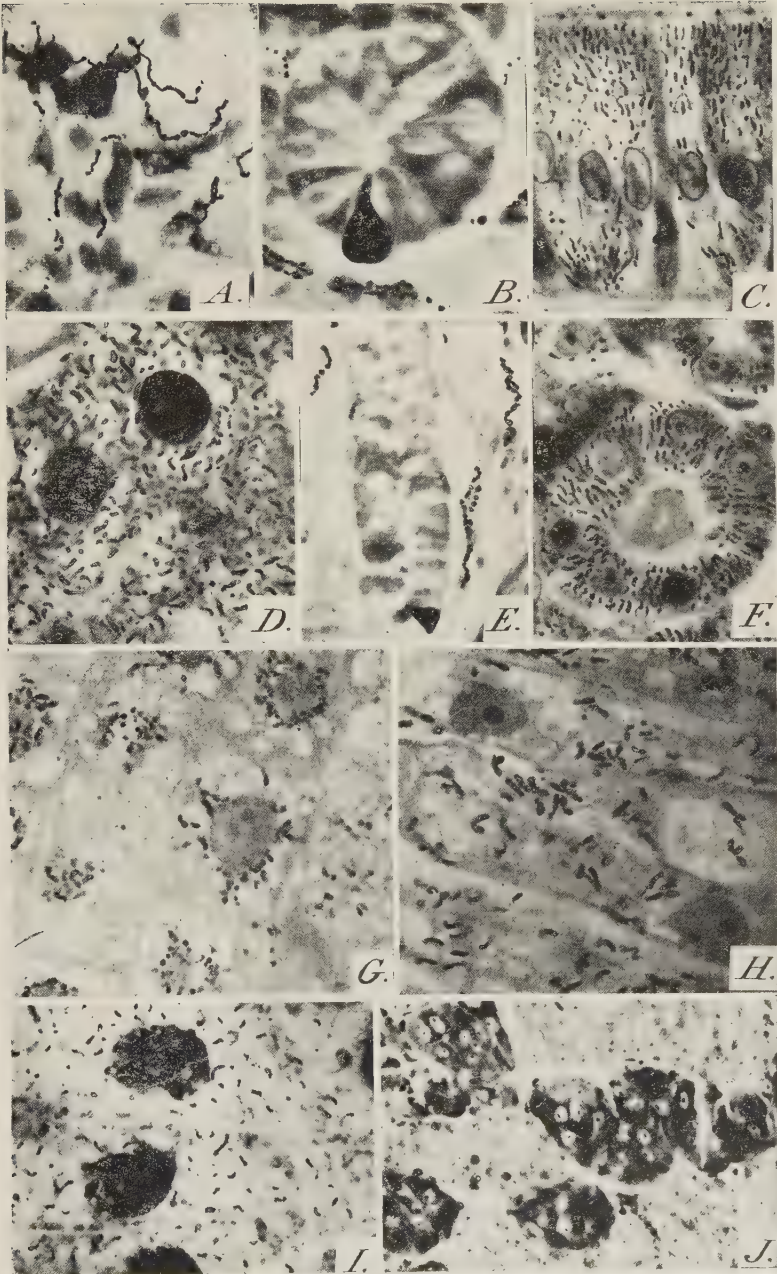
G. et H. — Coloration des vacuoles à tanoïdes et des plastas qui les précèdent à l'extrémité d'une racine de lys. La photo en G est prise plus près de l'extrémité dans la même file de cellule. Les plastas sont périnucléaires et courts ; en H, ils sont filamenteux et répartis dans tout le cytoplasme. En suivant la même file des cellules, on les voit se vacuoliser tout à fait, gardant toujours la réaction ; méthode de Champy à l'iodure, acide osmique.

Cette photo et les autres photos du chondriome ont été retouchées pour rétablir l'intensité de la préparation que la photo rend mal avec le matériel médiocre qu'on peut se procurer actuellement.

I. — Chondriome des cellules de racine de lys blanc (comparer avec les figures de plastas à tanoïdes) ; formol-iodate 2 jours.

J. — Surrénale d'oiseau ; formol-iodate 24 heures au fer Coloration noire de l'adrénalinogène.

PLANCHE I



qu'il s'agit dans les terminaisons sympathiques ce qui est en plein accord avec les données physiologiques. Nous avons noté dans un premier travail que les terminaisons adrénaliner-giques donnent seules une forte réaction. Ce que nous avons vu depuis nous montre que c'est encore bien plus net que nous n'avions pensé, mais une constatation de faits a orienté nos préoccupations dans une autre voie. En essayant à temps et proportions diverses des mélanges de formol et d'oxydants nous avons vu que ces fixations prolongées 24 à 48 heures (à l'étuve à 37°) permettent des colorations particulièrement nettes du chondriome. On les obtient avec une régularité que sont loin de donner les méthodes classiques. Ces préparations ont, du reste, un aspect particulier parce que les colorations nucléaires ne sont pas investies comme il arrive avec les réactifs bichromatés ou uranylés.

Ceci nous a amené à considérer que les oxydants jouent un grand rôle dans les méthodes classiques (liquide de Regaud (1909), de **Champy** (1913) liquides d'**Aitman** ou de **Meves** (1908), liquides uranylés de **Champy**, compliqué par **Benoit** (1922). Ces liquides présentent, comme le mélange formol-iodate couramment employé par nous, cette particularité qu'il faut un certain temps d'action pour obtenir une coloration convenable du chondriome.

On accepte généralement sur la coloration du chondriome l'explication de **Regaud** (1909). Cet auteur constatant l'analogie qu'il y a dans l'action des liquides bichromatés sur les enclaves lipidiques et sur le chondriome admet que ce dernier est caractérisé par les lipides, idée reprise par **Schaffer**, **Mayer** et **Fauré-Fremiet** (1909) qui admettent que les mitochondries représentent les lipides de constitution du protoplasma.

Cependant, **Giroud** (1926) a montré que le chondriome présente des réactions protidiques claires dans des exemples où la disposition caractéristique du chondriome ne peut laisser aucun doute, ces réactions étant toujours plus intenses que sur le protoplasme hyalin.

En fait, les meilleurs colorants physiques des lipides : soudan, chlorophylle, ne nous ont jamais donné des images claires du chondriome dans les exemples où il a une morphologie bien particulière.

Légende de la Planche II.

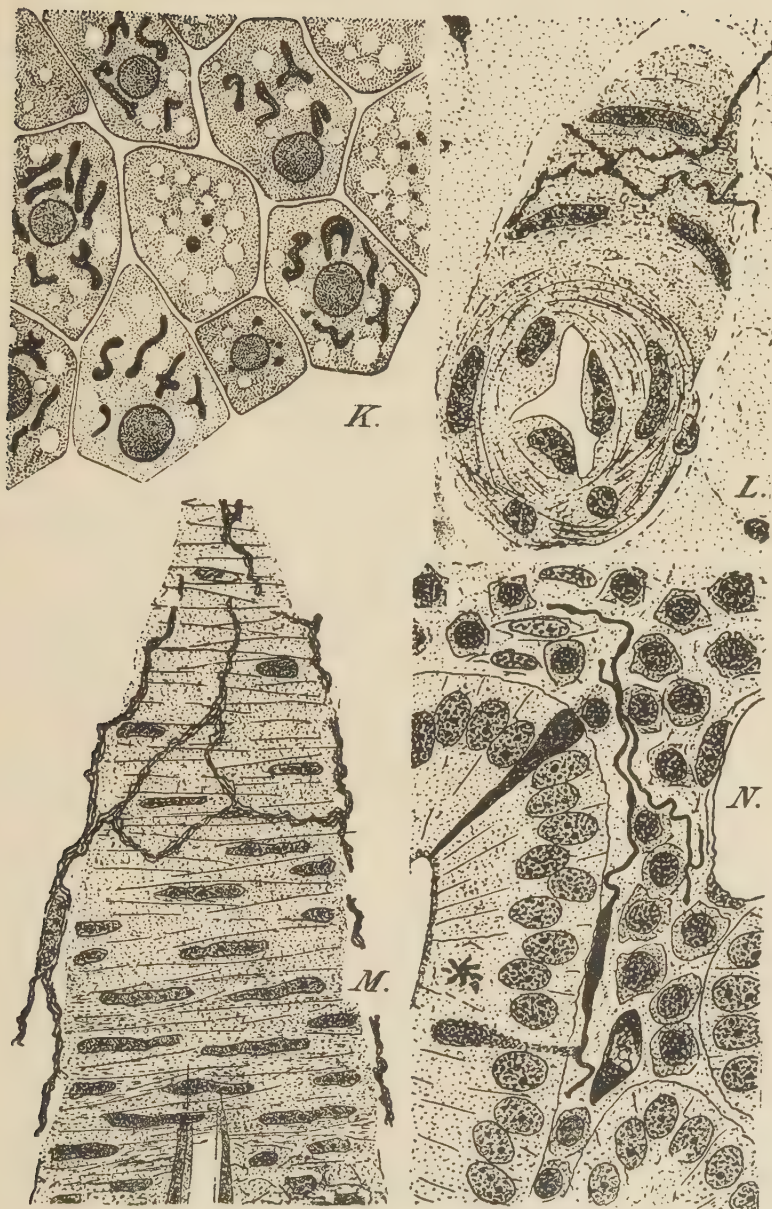
K. — Vacuoles filamenteuses des cellules du bord de la feuille d'un rosier. Coloration à l'hématoxyline ferrique après fixation au formol-iodate.

L. — Réseau sympathique périvasculaire ; artériole de la glande sous-maxillaire de lapin. Méthode au formol-iodate

M. — Réseau sympathique périvasculaire, méthode de Bielchowsky, après formol prolongé (glande de Harder du mouton).

N. — Intestin de cobaye, formol-iodate 24 heures. Coloration d'une cellule de Ciaccio et du réseau de Meissner.

PLANCHE II



D'autre part, avec l'iodate, il ne peut être question de formation de savons insolubles de métaux lourds, hypothèse qui est à la base de l'explication de **Regaud**. L'oxydation des doubles liaisons des graisses non saturées ne fournit pas une explication suffisante, non plus que leur insolubilisation puisque si l'on prolonge l'action des liquides considérés, la coloration n'a plus lieu. Nous nous sommes demandés s'il n'y aurait pas, dans toutes ces techniques, un phénomène d'attaque des chaînes protidiques suffisant pour libérer les acides aminés à fonction phénolique et leur permettre de former des complexes insolubles du type bakélite capable d'absorber les colorants. Lorsqu'il s'agit de liquides avec oxydants sans formol, il est possible que la quinonisation des phénols aboutisse à la formation de corps du type des phénoquinones. Il peut d'ailleurs se former, au cours de l'attaque des protides, d'autres complexes où intervient la fonction amine qui est aussi favorable à la polymérisation (bakélites d'amines) (**Scholl**, 1891, **Scherbach**, 1894).

Il faut remarquer, en tous cas, que certaines des réactions protidiques employées par **Giroud** sont, en réalité, des réactions de phénols (réactions de Milon, xanthoprotéique).

On comprend bien alors qu'une attaque trop prolongée des protides finisse par gêner la coloration : si l'action des réactifs visés s'accompagne d'un début d'hydrolyse, il ne faut pas que celle-ci soit trop poussée.

Pour nous faire une idée de la question, nous avons essayé comparativement des oxydants, comme l'iodate et le bichromate qui semblent hydroliser peu et catalysent bien la formation de bakélites et d'autres comme le persulfate qui ne catalysent pas cette réaction, mais hydrolysent activement. Avec les uns et les autres, on peut obtenir la mise en évidence du chondriome, mais les premiers se montrent nettement plus commodes à manier. Avec le persulfate, il faut employer des solutions très faibles, les fortes attaquant beaucoup les tissus; il se peut que si le chondriome représente simplement un complexe plus dense, résistant plus longtemps à l'hydrolyse.

Il peut même arriver et ceci est le fait le plus contraire à l'idée d'une structure lipidique du chondriome, qu'on l'obtienne avec de simples fixations formolées. Tous les histologis-

tes ont vu cela. Cela s'explique dans notre hypothèse, par le fait que les bakélites se forment en la seule présence du formol, mais seulement plus lentement. Contrairement à ce qui a été parfois avancé, la présence d'acides ne gêne pas toujours la fixation du chondriome et la favorise parfois. Il est probable qu'en milieu formolé, une faible hydrolyse de protides se produise à la longue. En tous cas, les oxydants (persulfate compris) rendent plus régulier un phénomène qui autrement n'est qu'accidentel, influencé qu'il est par les conditions accessoires de pH, de température, qu'on ne prend pas toujours soin de noter dans les fixations histologiques au formol.

Dans la pratique, l'iodate est le réactif le plus commode et un mélange de solution saturée d'iodate et de formol donne des résultats constants comme fixateur mitochondrial. On a des préparations plus égales et plus constantes qu'avec le formol-bichromate et plus complètes à cause de la non inversion des noyaux. Elles sont, pour cette raison, plus foncées et on doit employer des coupes très fines. Nous employons ce mélange formol-iodate comme fixateur mitochondrial courant.

Si la préparation est fixée un temps convenable pour avoir le chondriome, on y peut généralement colorer aussi le réseau sympathique et les grains des cellules de **Ciaccio** ; seulement, le réseau sympathique est difficile à voir car on colore aussi beaucoup d'autres choses.

La réciproque n'est pas vraie. Sur des préparations fixées un temps insuffisant, on peut avoir les cellules de Ciaccio et le réseau sympathique, alors que les mitochondries ne se colorent pas. La réaction de ces dernières semble ainsi apparaître plus lentement, ce qui s'explique sans doute par le fait que les fonctions phénoliques libres ou faciles à libérer commencent tout de suite à former des bakélites, les fonctions phénoliques masquées dans les protides, ne réagissant qu'après une certaine hydrolyse.

On serait donc amené, dans notre hypothèse, à considérer la mitochondrie soit comme formée d'un sol protidique plus dense que ce qui l'entoure c'est ce qui a été envisagé par **Giroud**, mais est mal d'accord avec la fluidité, la facile déformation et la fragilité du chondriome, soit comme formée d'un protide plus riche en acides aminés à fonction phénolique. Il ne faut pas oublier toutefois que

Légende de la Planche III.

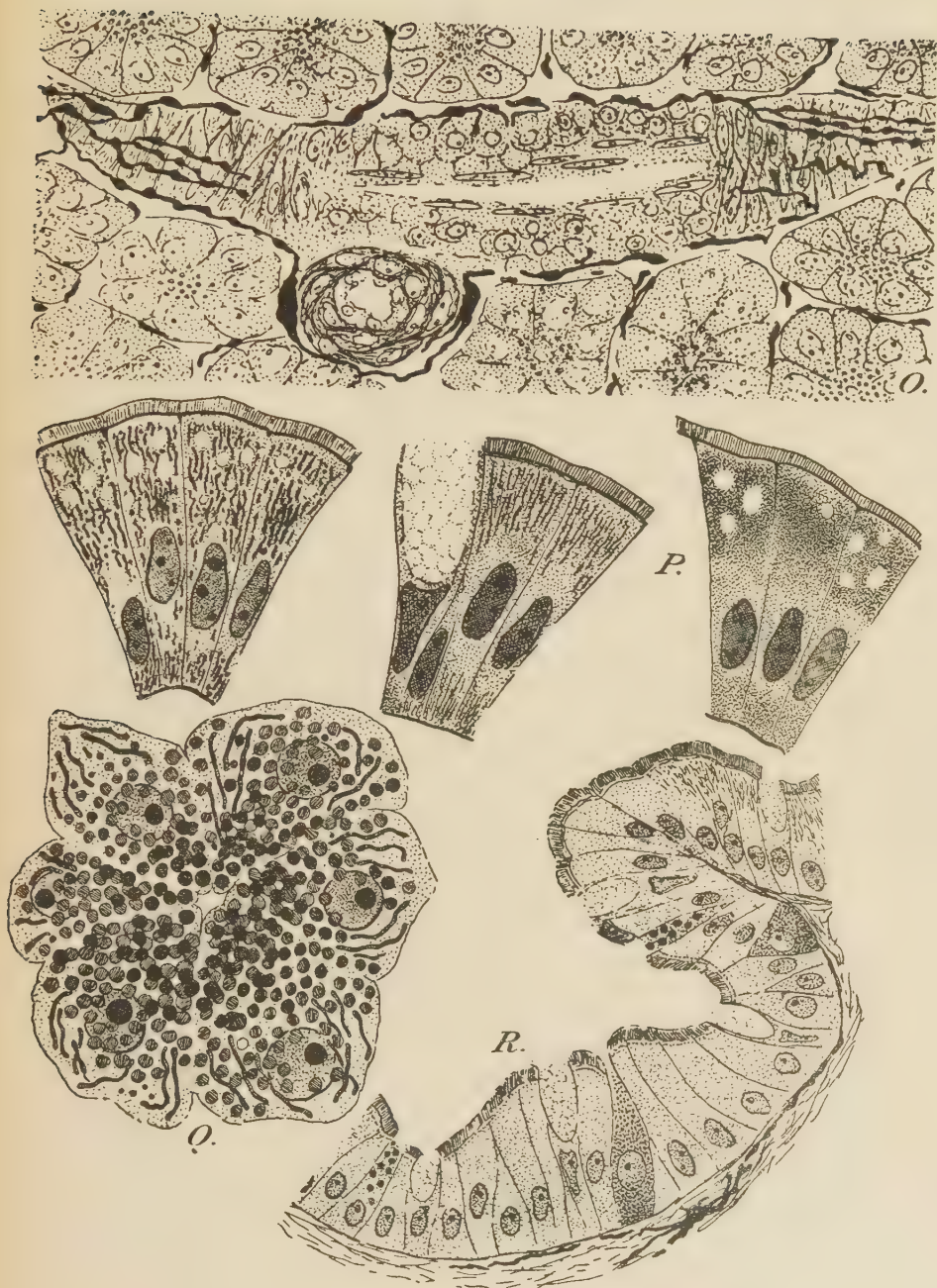
O. — Coloration du réseau périvasculaire dans une artériole du pancréas de canard (méthode de l'osmium).

P. — Comparaison de l'intestin d'un têtard d'Alytes nourri avec caséine, à jeun et avec gélatine, iodate, formol, hématoxyline.

Q. — Chondriome dans le pancréas du canard. Formol-iodate.

R. — Intestin de lézard : cellules de Ciaccio colorables au fer après fixation formolée prolongée. Sur ce bloc, elles sont incolores par la méthode de l'argent, alors qu'elles le sont sur d'autres blocs moins fixés où le fer ne les colore pas. Le réseau sympathique est visible.

PLANCHE III



bien d'autres phénomènes de polymérisation, que ceux où interviennent les phénols, peuvent entrer en jeu et compliquer considérablement les phénomènes. Il serait donc hasardeux d'affirmer sur la base des considérations que nous venons de développer, que le chondriome renferme la masse principale des acides aminés du cytoplasme, mais c'est une hypothèse qui vaut d'être envisagée et n'est pas plus invraisemblable que celle d'une constitution lipidique.

Les faits histologiques qui montrent des analogies de colorabilité entre le chondriome et certains grains mélaniques ou prémélaniques (cas de l'épithélium rétinien, **Champy** (1913), sont assez conformes à cette manière de voir. On peut donc signaler, à l'appui, que les diverses méthodes utilisées pour obtenir le réseau nerveux ou les grains prémélaniques, permettent avec de faibles variantes de colorer le chondriome.

A titre d'essai de confirmation, nous avons essayé de voir sur la cellule intestinale si l'absorption de protides riches en acides aminés phénoliques tels que la tyrosine donnerait au chondriome un aspect et une colorabilité meilleurs que l'absorption des protides qui en sont dépourvus. Pour cela, nous avons fait ingérer à des têtards d'Alytes d'une part une nourriture formée d'amidon et caséine (riche en tyrosine), d'autre part, une nourriture identique où la caséine est remplacée par de la gélatine (qui ne renferme pas de tyrosine). L'ingestion a duré un temps suffisant, quand on reconnaît dans les excréments le matériel ingéré. On fixe le même temps au formol-iodate, on coupe à la même épaisseur, on colle sur la même lame, on colore et décolore ensemble.

L'expérience montre nettement que le chondriome des animaux ayant absorbé de la caséine est plus colorable dans toutes ses parties. Les bâtonnets de la région Golgienne sont particulièrement évidents. Nous ne reprendrons pas ici la discussion cytologique classique du rôle des divers organites de la cellule dans le métabolisme cellulaire (**Parat**, 1928), mais la constatation est nette, l'aspect du chondriome est changé, comparé à celui de l'animal à jeun ou de l'animal ayant ingéré de la gélatine. Il semble que ce fait soit en faveur de l'idée que les acides aminés à fonction phénol jouent un rôle dans la réaction du chondriome.

L'essai par notre méthode de la lame avec des solutions de caséine et de gélatine comparativement fixés au formol-iodate et colorée à l'hématoxyline au fer montre d'ailleurs qu'on peut avoir le signe à la caséine nettement coloré, alors que celui à la gélatine est nettement décoloré, même chose avec de la gélatine additionnée d'un peu de tyrosine par rapport à la gélatine seule. La concordance entre l'expérience sur lame et l'expérience in vivo est assez suggestive.

Nous ne pensons pas avoir résolu définitivement la question de la nature chimique du chondriome, mais nous croyons avoir souligné la fragilité de la théorie classique, la complexité de ce qui peut se passer au cours d'une fixation, et nous avons essayé seulement quelques-uns des phénomènes qui peuvent jouer.

Cette étude a du moins un résultat pratique, c'est que la méthode à l'iodate peut être employée couramment pour le chondriome avec des résultats plus réguliers que les autres méthodes (1). La fixation est, certes, moins fine qu'avec les liquides osmiques, mais généralement meilleure qu'avec les autres réactifs formolés.

Les diverses méthodes de coloration du chondriome peuvent être employées, mais l'hématoxyline ferrique donne les meilleurs résultats. La coloration des grains de **Ciaccio** ou des grains d'adrénalinogènes est intense ainsi que celle des filaments sympathiques, mais la nécessité des coupes très fines rend l'étude de ce réseau à peu près impossible sur de telles préparations qui n'ont, à cet égard, qu'un intérêt théorique, et sont bien inférieures, notamment à celles de la méthode osmium-iodure. Mais les considérations développées ici montrent que, dans cette technique, il s'agit bien d'une révélation de composés phénoliques.

(1) En pratique, nous fixons 24 à 48 heures à 37° dans un liquide composé de : formol neutre à 10 % : 2 parties ; solution saturée d'iodate de potasse : 3 parties. La solution jaunit un peu par libération d'iode, phénomène qui est très accéléré par la présence des tissus. C'est l'indice d'un bon résultat. On lave, on monte et on colore par l'hématoxyline ferrique, technique de REGAUD. On a intérêt à varier avec les objets la concentration de la solution d'iodate en y ajoutant plus ou moins d'eau distillée ou de formol.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 5 Avril 1943.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Paul MONTEL.

VU

et Permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie
de Paris,*

Gilbert GIDEL

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

BACKELAND. J. Indust. a. Engin. Chem. ; 1 ; 155 ; 1909 ; 4 ; 739 ; 1912. — BENOIT. C. R. Soc. biol., 1922. — CHAMPY, C. Thèse, Paris 1911. — *Id.* Journ. Anat. et Physiol. ; n° 4 ; 323 ; 1913. — CHAMPY, R. et C. COUJARD. Ann. endocr. ; 3 ; 1942. — R. et C. COUJARD. Arch. zool. exper. ; n° 2 ; 1942. — DANGEARD. Bull. soc. botanique France ; 1916. — EBERHARDT. Ber. ; 27 ; 1804 ; 1894. — ELLIS C. Synthetic of their Plastics. New-York, Chem. est. comp., 1923. — FAURÉ-FRÉMIET. C. R. Ac. Sc. ; 1909. — FAURÉ-FRÉMIET, MAYER et SCHAFER. C. R. Soc. Biol. ; 66 ; 1909. — FAURÉ-FRÉMIET. C. R. Soc. Biol. ; 67 ; 1909. — GIROUD, A. Arch. anat. micros. ; avril 1925. — *Id.* C. R. Ass. anat. ; 1924. — *Id.* C. R. Soc. Biol. ; 1924. — *Id.* Arch. Zool. expériment. ; 1922. — *Id.* C. R. Ass. Anat. ; 1921. — GSELL. Chem. Zeit. ; 46 ; 460 ; 586 ; 1897. — GUILLIERMOND, A., MANGENOT, G. et PLANTEFOL, L. Traité de cytologie végétale. Paris, 1933. — GUIGNARD. Traité de chimie organique ; 1 ; 322-328 ; Paris, 1935. — GUILLERMOND. C. R. Soc. Biol. ; 1918. — *Id.* Bull. Biol. ; 1921. — HERZOG et KREIDL. Zeit. Angew. Chem. ; 35 ; 641 ; 1922. — JABLONOWER. J. Amer. Chem. Soc. ; 35 ; 811 ; 1913. — LEBACH. Zeit. Angew. Chem. ; 22 ; 1598 ; 1909 ; et Chem. Zeit. ; 733 ; 750 ; 1913. — LISON. Histochimie animale ; Paris ; 1936. — MÈVES. Arch. mikr. Anat. ; 1908. — PARAT. Arch. Anat. micr. ; 24 ; 73 ; 1928. — REGAUD. C. R. Ac. Sc. ; 1909. — *Id.* Rev. Méd. ; oct. 1911. — SCHEIBER et SANDIG. Artificial Resins. London, 1931. — SCHOLL. Ber. Deut. Chem. Ges. ; 24 ; 575 ; 1891. — VAN WOORHOUT. Chem. Weekblad. ; 17 ; 2 ; 1921.

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX (AIN) — G. PATISSIER — 31 3607

